

干扰素治疗过程中。

此外,患者治疗中的依从性和耐受性也是影响治疗效果的一个重要原因,治疗失败的一个重要原因是患者没能按治疗方案进行正规治疗。再次治疗时仍存在依从性和耐受性问题,依从性好才有可能获得成功。如果首次治疗中,即使患者正确处理副反应,仍不能耐受,或首次治疗中曾出现目前无法治疗的合并症,那么对再次治疗的副反应仍有可能不能耐受,这些患者也不宜再次治疗^[14]。以下提示再次抗病毒治疗疗效较差:曾用过 IFN 与利巴韦林联合治疗不能获得 SVR; 1 型患者;血清 HCV RNA $>1.5\times 10^6$ IU/mL,肝硬化等。加之,一些常见的易引起治疗无应答的因素包括:正在使用其他静脉内用药,饮酒,没有正规服药,或者由于贫血而导致减量。以上因素改善后,可以再次进行抗病毒治疗^[15]。采用长效干扰素或联合利巴韦林等较单用普通干扰素更为有效的治疗方法进行再次抗病毒治疗,更可获得持续病毒学应答。可以看出,对慢性丙型肝炎患者的治疗手段还有待进一步提高。

7 参考文献

- Hino K, Okita K. Interferon therapy as chemoprevention of hepatocarcinogenesis in patients with chronic hepatitis C. *J Antimicrob Chemother* 2004;53:19-22
- Enriquez J, Gallego A, Torras X, Perez-Olmeda T, Diago M, Soriano V, Lujan MS, Garcia-Samaniego J. Retreatment for 24 vs 48 weeks with interferon-alpha2b plus ribavirin of chronic hepatitis C patients who relapsed or did not respond to interferon alone. *J Viral Hepat* 2000;7:403-408
- Hepburn MJ, Hepburn LM, Cantu NS, Lapeer MG, Lawitz EJ. Differences in treatment outcome for hepatitis C among ethnic groups. *Am J Med* 2004;117:163-168
- Shiffman ML. Retreatment of patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2002;36:S128-134
- Shiffman ML. Chronic hepatitis C. *Semin Liver Dis* 2004;24:S1-2
- Cavalletto L, Chemello L, Donada C, Casarin P, Belussi F, Bernardinello E, Marino F, Pontisso P, Gatta A, Alberti A. The pattern of response to interferon alpha (alpha-IFN) predicts sustained response to a 6-month alpha-IFN and ribavirin retreatment for chronic hepatitis C. *Tvvh study group. J Hepatol* 2000;33:128-134
- Berg T, Pascu M, Moller B. Prediction of spontaneous viral clearance in acute hepatitis C by viral load measurements. *Hepatology* 2003;37:1495-1496
- Arase Y, Ikeda K, Tsubota A, Suzuki Y, Saitoh S, Kobayashi M, Suzuki F, Akuta N, Someya T, Hosaka T, Kobayashi M, Kumada H. Efficacy of interferon retreatment after relapse for chronic hepatitis C patients with biochemical response after first interferon therapy. *J Gastroenterol* 2004;39:455-460
- Fattovich G, Zagni I, Fornaciari G, Minola E, Fabris P, Boccia S, Giusti M, Abbati G, Felder M, Rovere P, Redaelli A, Tonon A, Montanari R, Paternoster C, Distasi M, Castagnetti E, Tositti G, Rizzo C, Suppressa S, Pantalena M, Lomonaco L, Scattolini C, Tagger A. Efficacy of prolonged 5 million units of interferon in combination with ribavirin for relapser patients with chronic hepatitis C. *J Viral Hepat* 2003;10:111-117
- Dettmer RM, Reinus JF, Clain DJ, Aytaman A, Levendoglu H, Bloom AA, Isaacson MP, Spinnell M, Meyer D, Sarabanchong V, Zhang Y, Garcia-Carrasquillo RJ, Markowitz DD, Magun AM, Worman HJ. Interferon-alpha-2b and ribavirin for retreatment of chronic hepatitis C. *Hepatogastroenterology* 2002;49:758-763
- Shiffman ML, Hofmann CM, Gabbay J, Luketic VA, Sterling RK, Sanyal AJ, Contos MJ, Ryan MJ, Yoshida C, Rustgi V. Treatment of chronic hepatitis C in patients who failed interferon monotherapy: effects of higher doses of interferon and ribavirin combination therapy. *Am J Gastroenterol* 2000;95:2928-2935
- Strader DB, Wright T, Thomas DL, Seeff LB. American association for the study of liver diseases. Diagnosis management and treatment of hepatitis C. *Hepatology* 2004;39:1147-1171
- Puppo F, Torre F, Contini P, Ghio M, Brenci S, Brizzolara R, Sinelli N, Campo N, Indiveri F, Picciotto A. Soluble beta2-mu-associated and beta2-mu-free HLA class I heavy chain serum levels in interferon-alpha nonresponder chronic hepatitis C patients. Markers of immune activation, and response to antiviral retreatment. *J Clin Immunol* 2000;20:486-490
- Peters M, Terrault N. Alcohol use and hepatitis C. *Hepatology* 2002;36:S220-225
- Shiffman ML, Di Bisceglie AM, Lindsay KL, Morishima C, Wright EC, Everson GT, Lok AS, Morgan TR, Bonkovsky HL, Lee WM, Dienstag JL, Ghany MG, Goodman ZD, Everhart JE. Hepatitis C antiviral long-term treatment against cirrhosis trial group. Peginterferon alfa-2a and ribavirin in patients with chronic hepatitis C who have failed prior treatment. *Gastroenterology* 2004;126:1015-1023

慢性丙型肝炎的免疫治疗

施光峰, 陈明泉

施光峰, 陈明泉, 复旦大学附属华山医院传染病科 上海市 200040
项目负责人: 施光峰, 200040, 上海市, 复旦大学附属华山医院传染病科。
gfshi2001@yahoo.com
收稿日期: 2004-09-20 接受日期: 2004-10-08

施光峰, 陈明泉. 慢性丙型肝炎的免疫治疗. 世界华人消化杂志 2004; 12(10):2385-2388

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/2385.asp>

0 引言

丙型肝炎是由丙型肝炎病毒(HCV)感染引起的一种重要的传染病,约70-85%的感染者发展为慢性肝炎,其中约10-20%的慢性丙型肝炎患者可发展成肝硬化,1-5%可发展成肝细胞性肝癌等终末期肝病,危害极大。目前,全球HCV感染者近2亿,在我国也有3 000-4 000 万左右的HCV感染者,HCV感染引起的慢性丙型肝炎已经成为重大的世界卫生问题^[1]。

当前,慢性丙肝的治疗依然以干扰素作为标准治疗方法,尚未有其他突破性进展。目前尚无预防HCV感染的疫苗可用于临床。HCV感染后在体内持续存在和被清除的机制仍不明确。最近的研究提示^[2],强烈的多特异性细胞免疫,特别是CTL反应在病毒的清除过程中扮演了重要角色,因此开发治疗性疫苗用于治疗慢性HCV感染是完全可行的。下面就慢性丙型肝炎的免疫相关治疗作一综述。

1 干扰素治疗

2003-06 美国国立卫生研究院(NIH)和美国肝病学会(ALA), 对近 10 a 来慢性丙型肝炎的治疗研究作了全面的总结, 明确了 α -干扰素是目前慢性丙型肝炎的标准治疗, 具体用药方法为 3 MU, 3 次/wk, 连续用 52 wk. 常用的干扰素有干扰素 α -2a, α -2b, C-IFN(consensus interferon)以及Peg-IFN. 所有干扰素均需通过与靶细胞受体结合, 启动干扰素反应基因成分, 产生抗病毒蛋白及多种免疫调节因子^[3].

1.1 应用干扰素的指征 慢性丙型肝炎患者丙氨酸转氨酶(ALT)在正常上限值 1.5 倍以上, 抗 HCV 及 HCV RNA 阳性, 尤其是肝活检显示炎症者, 均需应用干扰素治疗. 干扰素治疗慢性丙型肝炎的禁忌证是失代偿性肝硬化、自身免疫性疾病或甲状腺炎、甲状腺功能亢进、内源性抑郁症、精神分裂症、严重血小板减少、白细胞减少、妊娠及严重冠状动脉性心脏病等. 干扰素治疗慢性丙型肝炎的疗效评价指标, 最早用 ALT, 后来多数研究者以 ALT 和 HCV RNA 为指标. 一般每隔 2-4 wk 检查一次, 尤其重要的是在第 12 wk 进行评定疗效, 这时如果 ALT 及 HCV RNA 仍无改变, 预示疗效不理想, 应考虑停药或调整治疗方法, 包括调整剂量及应用其他干扰素制剂等. 随机临床试验研究表明^[4], 干扰素对一些慢性丙型肝炎患者有效, 从生化方面来看, 经典的 6 mo 疗法结束时, 其有效率高达 40-50%. 治疗结束后 6 mo 持续有效者仍高达 20%, 肝组织学亦有所改善, 如果疗程延长到 12 mo, 持续有效率可提高到 20-30%.

1.2 影响干扰素疗效的因素 影响干扰素疗效的因素很多: (1)HCV 的基因型: HCV 有 6 种基因型, HCV 基因型不仅影响临床过程, 也影响干扰素的疗效, 研究表明 III 型 HCV 较 II 型和 I 型对干扰素敏感. (2)HCV RNA 水平: 资料表明, 治疗前 HCV RNA 低于 10^6 copies/mL, 对干扰素治疗有效率高. (3)HCV RNA 变异: HCV 以异质性群体存在于机体中, 其包膜基因组 E 区的快速变异, 不仅可逃避免疫监视, 且可能形成干扰素耐药株^[5]. (4)其他: 如年龄、疾病状态及治疗过程中出现干扰素抗体等, 均可影响干扰素的疗效. 干扰素治疗有许多副作用, 如头痛、乏力、不适、肌疼、关节疼、发热、厌食、消化不良、恶心、呕吐、腹痛、腹泻、焦虑、注意力不集中、情绪不稳、失眠、易激惹、咳嗽、呼吸困难、咽炎、脱发、瘙痒、皮疹、皮肤干燥、注射部位发炎等, 但通常并不严重, 严重或甚至威胁生命的副作用约占 0.1-1%, 副作用常与剂量相关, 有抑郁等精神障碍、免疫性甲状腺疾病及其他自身免疫性疾病时应充分注意.

1.3 干扰素和病毒唑联合治疗 干扰素尽管是目前治疗慢性丙型肝炎的标准治疗方法, 但其疗效仍不尽人意. 探讨与干扰素联合治疗能增加干扰素疗效的药物是目前慢性丙型肝炎治疗的研究热点之一^[6]. 病毒唑能抑制 DNA 和 RNA 病毒, 目前认为他与干扰

素, 尤其是长效干扰素联合是治疗慢性丙型肝炎最有前途的药物^[1]. 干扰素 + 病毒唑联合治疗慢性丙型肝炎的作用机制尚不明. 研究发现病毒唑能增加 T 细胞的 I 型细胞因子(IL-2、 α -干扰素及 γ -干扰素)反应, 抑制 II 型细胞因子(IL-4、IL-5 及 IL-10)反应, 病毒唑可能促进 I 型细胞因子介导的免疫反应增加 α -干扰素对慢性丙型肝炎的疗效^[7]. 干扰素 + 病毒唑联合治疗相对安全, 其副作用与单用干扰素治疗慢性丙型肝炎相似, 但联合治疗时呼吸困难、咽炎、黄疸、皮疹、恶心、失眠及焦虑更常见. 联合治疗较单用干扰素治疗更需减少剂量及中止治疗, 需减少剂量的主要原因是溶血性贫血. 病毒唑引起溶血的机制不明, 可能与其在红细胞内快速沉积有关. 需中止治疗的最常见副作用是精神障碍, 其中主要是抑郁.

2 细胞免疫治疗法

慢性丙型肝炎的发病机制是由于人体免疫系统存在一定缺陷, 主要是细胞免疫的缺陷, 表现为能够特异性地有效杀伤慢性丙型肝炎病毒的细胞毒 T 细胞数量不足或质量较差, 导致病毒不能被彻底清除. 细胞免疫疗法即是采用特殊的方法增加人体的特异性的细胞毒 T 细胞的数量, 使其能够有效地杀灭慢性丙型肝炎病毒. 具体步骤简述如下: 先提取患者的外周血中一定数量的淋巴细胞, 在体外培养, 同时加入一些特异性的细胞因子, 促使这些淋巴细胞转化为对慢性丙型肝炎病毒有较强杀伤作用的细胞毒 T 细胞. 经培养数日后细胞即可得到充分地活化并大量增生, 数量可增加数十倍至百倍, 然后再将活化的细胞回输至患者体内, 获得杀伤病毒的作用.

这种设想类似于十几年前治疗慢性乙型肝炎的 LAK 细胞回输方法, 是否适用于慢性丙型肝炎的治疗, 目前正在临床研究观测阶段, 但初步结果令人鼓舞: 在已经完成了两个疗程的 10 例患者中, 其 ALT 复常率和 HCV RNA 阴转率均达到 70% 以上, 且大多在第一个疗程结束后不久即出现病毒指标的阴转和肝功能的复常. 目前由于这些患者接受治疗的时间还比较短, 对其远期疗效还不能作出评价. 该方法将来也许不能完全取代干扰素治疗, 但作为不能应用干扰素的患者的一种替代疗法, 依然有着广阔的前景^[8].

3 糖皮质激素

HBV DNA 含有糖皮质激素反应成分(glucocorticoid responsive element, GRE), 而 HCV 与 HBV 感染具有相似性, 因此 HCV 也可能含有 GRE. 研究发现^[9], 糖皮质激素治疗期间血清 HCV 升高水平与转氨酶下降水平一致. 研究还发现, 糖皮质激素停用后血清 HCV 下降, 可能由于糖皮质激素停用后免疫抑制解除并继发免疫反跳, 从而杀伤表达 HCV 的肝细胞, 进而抑制病毒复制. 低水平 HCV RNA 是干扰素维持治疗的指标, 因此, 干扰素

治疗前使用短疗程糖皮质激素可能会使干扰素治疗取得较好的疗效. 但对乙肝先用激素后用抗病毒药治疗的效果并未得到公认, 故干扰素治疗前使用短疗程糖皮质激素治疗慢性丙型肝炎应慎重^[9].

4 丙型肝炎预防性疫苗

4.1 丙型肝炎预防性疫苗的研究简况 中和抗体在传染性疾病预防中具有重要的作用, 传统上以体液免疫的强弱评价疫苗是否有效. 由于 HCV 复制相关的 RNA 聚合酶无校对功能, HCV 复制时有很高的突变率. 因此, 根据 HCV 基因组保守区和非保守区序列间同源性的不同, 可将 HCV 分为 6 个主要的基因型, 各基因型进而又可分为不同的基因亚型, 而且在同一患者体内也常常存在有多种基因有微小差异的 HCV 毒株, 称为准种或变种(quantispecies). 针对一种 HCV 产生的中和抗体不能预防其他型 HCV 的感染, 使以刺激机体产生中和性抗体为目标的预防性疫苗的研制极为困难. 尽管现在已经明确 HCV 包膜糖蛋白 E2 区, 特别是位于 E2 氨基端的高变区 1(hypervariable region 1, HVR1)存在有中和性抗体表位, 但极可能为株特异性表位. 用重组 E2 蛋白和 HVR1 合成肽免疫黑猩猩, 诱生的抗体能保护黑猩猩耐受同株病毒的攻击, 但对异株病毒的攻击无任何保护作用^[10]. 但是, 近来新的研究表明^[11], HVR1 区具有一定的交叉反应性, Puntoriero *et al*^[14]通过将筛选 HVR1 噬菌体肽库获得的若干模拟表位组合合成复合抗原肽(multiple antigen peptides, MAP)免疫小鼠, 产生的抗血清可同高达 95% 的 HCV 患者血清发生交叉反应, 提示应用 MAP 作为免疫原可能是解决 HVR1 高变性的一条确实可行的新途径. 最近, Goto *et al* 现用 HCV-N2 株的 E1-E2 蛋白或 HCVH-#6 株的 HVR1 合成肽免疫黑猩猩后以 HCV-#6 攻击, 只有抗 HVR1 抗体滴度上升的黑猩猩获得了完全保护^[12]. 待抗 E1-E2 抗体滴度下降后以 10 倍半数黑猩猩感染量(CID₅₀)的 HCV 攻击, 免疫的黑猩猩仍旧不能感染, 而且其血清可中和 HCV 病毒. 经 Pin-ELISA 法研究表明, 抗 HVR1 抗体主要识别 C 末端的表位. 他们认为在 HVR1 部分序列保守的情况下, 即使该表位部分氨基酸序列被其他 HCV 毒株替代, 仍可诱导产生具广泛交叉反应性的抗体, 这为开发出具有广泛中和活性的 HCV 预防性疫苗展示了新的希望.

4.2 治疗性丙型肝炎疫苗研究新进展 在世界范围内治疗性疫苗的研究才刚刚起步, 大部分的研究还只是停留在对自限性 HCV 感染后机体的免疫反应上, 特别是细胞免疫反应在病毒清除中的地位与作用、T 细胞表位的筛选鉴定和动物实验阶段, 尚未见有候选治疗性疫苗应用于黑猩猩的研究报告. 为了设计基于 T 细胞免疫的疫苗, 筛选、鉴定可与多数人 MHC I 类分子结合的保守表位也十分重要. 因为 CD8⁺T 细胞在病毒的清除中也起着举足轻重的作用, 筛选多种 HLA I 类分子等位基因限制的 CTL 表位对构建可在广泛人群中激起有

效免疫反应的疫苗非常关键. 所幸近年研究表明^[13], 不同的 HLA 等位基因型具有相同的肽结合基序, 称为超型(supertype). 例如 HLA-A3 超型的成员(包括 HLA-A3, -A11, -A31, -A33 和 -A6801 等)可以结合第 2 位氨基酸残基是 A, V, I, L, M, S 或 T 及羧基端是 R 或 K 的短肽; HLA-B7 超型的成员(包括 HLA-B7, -B35, -B53, -B54 和 -B51 等)可结合第 2 位氨基酸残基是 P 但羧基端氨基酸残基是 A, I, L, M, V, F, W 或 Y 的短肽. 通过筛选 HCV 氨基酸序列就可鉴定、合成并检测这些肽表位与不同 HLA 单体型的结合亲和力以及他们体外抗原性和免疫原性. Chang *et al* 报道, 根据发表的不同 HCV 分离株的氨基酸序列, 筛选、鉴定了若干 HLA-A3 和 B7 超型限制的 T 细胞表位^[14]. 他们认为, 考虑到以前报道的 HLA-A2 限制性 CTL 表位, HLA-A2, -A3 和 B7 三个超家族的所有成员就已经覆盖了世界人口 80% 以上的基因型.

Schweitzer *et al*^[15]建立了一种基于流式细胞术和 MHC-肽四聚体的鉴定 HCV C 抗原 T 细胞表位的方法, 发现在氨基酸 35-44, 87-96, 131-140 和 167-176 处有与 HLA-A2 结合的表位, 这些表位同 SYFPEITHI 软件预测的和已知的表位是相符的. Urbani *et al*^[16]为了模拟自然感染时体内的天然抗原提呈过程, 以便在体外活化和扩增 CTL 细胞, 构建了 5 个携带 HCV 结构和非结构蛋白基因的缺陷型腺病毒感染体外培养的贴壁单核细胞, 使 HCV 蛋白在细胞内表达并被 MHC I 类分子提呈至细胞表面. 然后, 将 HLA-A2 阳性的 HCV 感染者的 PBMC 与之共培养后作为效应细胞, 以一系列具有 HLA-A2 结合基序的 HCV 合成肽冲击的或携带 HCV 基因的痘病毒感染的细胞作为靶细胞来评价 CTL 活性. 这是一个可重复性的、模拟体内抗原提呈过程的扩增 HCV 特异性 CTL 的良好方法, 通过这种方法鉴定了一系列 HLA-A2 限制性的免疫优势的 CTL 表位, 他们有可能成为治疗性疫苗设计的候选表位.

4.3 治疗性丙型肝炎疫苗研究策略 要研制开发一种具有现实意义的 HCV 疫苗, 必须澄清疫苗研制中的模糊认识, 即认为疫苗应该 100% 有效, 能保护所有受试者绝对不被感染或 100% 有效的疫苗实际上并不存在. 分析以往成功应用的人类疫苗可以看到, 能够提供 70-80% 保护率或仅能保护受试者免于发病就是很好的疫苗了, 当前应用的大部分针对人类细菌或病毒性疾病的疫苗都属此类. 因此, 即便研制出的 HCV 疫苗不能预防感染, 但能够通过感染后清除病毒降低 HCV 感染后的慢性化率, 也具有非常重要的公共卫生价值和重要的社会效益. HCV 与宿主相互作用的结果决定了病情的进展和转归, 治疗性疫苗研制必须在考虑到克服 HCV 病毒高变问题的同时充分考虑宿主因素, 即人群 HLA 基因型的差别而导致的对 HCV 免疫反应的差别. 由于人类 MHC 分子具有复杂的多态性, 往往导致一些抗原表位与某些个体的 HCV 分子不能有效结合, 造成抗原提呈

受阻和免疫个体无反应性。因此, HCV 感染在不同的感染者身上产生了不同的结果, 少数感染者仅发生急性丙型肝炎, 然后清除病毒而痊愈; 有些感染者发生急性肝炎后转为慢性丙型肝炎; 有些感染者根本不发病, 表现为无症状携带者。HLA II 类分子表型对机体感染 HCV 后免疫反应的强弱及病毒的清除均有重要影响, Thio *et al* 研究了不同种族之间 HLA II 类分子与 HCV 感染预后的相关性^[17]。结果表明, 考虑到种族因素, HLA-DQB1*0301 与病毒清除弱相关, 但在黑种人中显示为强相关。至于白种人, 病毒的清除与 DRB1*0101 及其单体型 DRB1*0501 相关, 而病毒在体内持续存位基因的表型在 HCV 感染机体后的免疫反应中扮演了重要的角色。Harcourt *et al* 的研究结果与 Thio *et al* 的结果类似, 发现 HLA-DQB1*0301 (与 HLA-DRB1*1101 紧密连锁不平衡) 的表型与多特异性 CD4⁺ Th 辅助细胞反应的保持密切相关^[18]。因此, 在选择候选疫苗的保护性肽时, 应该考虑到 HLA II 类分子基因型的影响。这也提示将来的 HCV 疫苗不可能在所有的接种者体内激起有效的免疫反应, 我们现阶段应该接受部分有效的 HCV 疫苗应用于人群接种的设想, 此类疫苗在实践中还将在疫苗的组成、形式或免疫途径方面不断完善。所以, 选择具有免疫优势性的、多适性的及高度保守的 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 细胞表位构建多表位嵌合疫苗, 以研发适合于不同种族、不同基因型的慢性 HCV 感染者的治疗性 CTL 疫苗是十分可行的。当然, 体液免疫反应的作用也不可忽视, 可能 HCV 感染后病毒的清除需要体液免疫与细胞免疫反应协同作用, 过分强调某一方面是不恰当的, 这还需要对 HCV 感染后机体免疫反应的质与量进行深入细致的研究。

5 问题与展望

干扰素尽管是目前治疗慢性丙型病毒性肝炎的标准治疗方法, 但其疗效仍不尽人意。如何提高干扰素治疗的疗效, 是一个重要问题。目前认为, 干扰素, 尤其是长效干扰素联合病毒唑治疗是比较可行的方案^[19], 既可以克服正规干扰素半寿期短的缺点, 又可方便患者应用, 增加治疗依从性。临床试验显示, 疗效较之于正规干扰素为优。是否联合其他免疫调节药物, 如胸腺肽、胸腺素、转移因子等, 尚需进一步临床试验来论证。

丙肝的疫苗方面, HCV 不能在培养细胞中有效复制, 也无感染 HCV 的小动物模型, 以及对疫苗的临床前研究只能在黑猩猩体内进行是疫苗研制中的主要困难。正在探讨并进行临床前期评估的 HCV 疫苗形式包括: 病毒样颗粒疫苗、合成肽疫苗、重组亚单位疫苗、DNA 疫苗以及病毒载体介导的基因转导疫苗等。研究显示^[20], DNA 疫苗可同时诱导抗体反应和 CTL 反应, 其

中 CTL 反应居于主导地位, 因此设计包含有多个保守 HCV 抗原表位及辅助性 T 细胞表位多价融合抗原基因的治疗性 DNA 疫苗, 可以在不同个体中激起广泛而强烈的对 HCV 基因型和分离株有交叉反应性的 T 细胞免疫反应, 有望应用于 HCV 感染者的治疗及健康人群的预防性接种。

6 参考文献

- Cohen J. The scientific challenge of hepatitis C. *Science* 1999; 285:26-30
- Lechman M, Liang TJ. Vaccine development for Hepatitis C. *Semin Liver Dis* 2000;20:211-226
- Chang KM. Immunopathogenesis of hepatitis C virus infection. *Clin Liver Dis* 2003;7:89-105
- Puntoriero. Viral factors affecting the outcome of therapy for chronic hepatitis C. *Rev Gastroenterol Disord* 2004;4:S8-S13
- Pradat P, Maynard M, Buti M, Berthillon P, Picchio G, Tillmann HL, Wiegand J, Voirin N, Manns MP, Esteban JI, Martinot M, Marcellin P, Trepo C. The predictive value of core antigen testing for the management of hepatitis C patients receiving pegylated interferon/ribavirin treatment. *J Med Virol* 2004; 73:392-396
- Shiffman ML. Side effects of medical therapy for chronic hepatitis C. *Ann Hepatol* 2004;3:5-10
- Migliorisi L, Bacosi M, Russo F, Patrizi F, Saccenti P, Ursitti A, Angelis AD, Ricci GL. Consensus interferon versus interferon-alpha 2b plus ribavirin in patients with relapsing HCV infection. *Hepatol Res* 2003;27:253-259
- Kakimi K. Immune-based novel therapies for chronic hepatitis C virus infection. *Hum Cell* 2003;16:191-197
- Martagon J, Gordon SM. Special management challenges in hepatitis C. *Cleve Clin J Med* 2003;70:S27-33
- Patel K, McHutchison JG. Current therapies for chronic hepatitis C. Drug combination achieves sustained response in more than half of patients. *Postgrad Med* 2003;114:48-52
- Smith C. Management of hepatitis C. *Minn Med* 2003;86:53-56
- Jiao X, Wang RY, Qiu Q, Alter HJ, Shih JW. Enhanced hepatitis C virus NS3 specific Th1 immune responses induced by co-delivery of protein antigen and CpG with cationic liposomes. *J Gen Virol* 2004;85:1545-1553
- Meschini A, Lucchetta MC, Fontana M, Nocchi S, Pace A, Grassi M. Recent trends in the therapy of hepatitis C. *Clin Ter* 2003;154:181-191
- Torresi J, Bharadwaj M, Jackson DC, Gowans EJ. Neutralising antibody, CTL and dendritic cell responses to hepatitis C virus: a preventative vaccine strategy. *Curr Drug Targets* 2004;5:41-56
- Hugle T, Cerny A. Current therapy and new molecular approaches to antiviral treatment and prevention of hepatitis C. *Rev Med Virol* 2003;13:361-371
- Poordad FF, Tran T, Martin P. Developments in hepatitis C therapy during 2000-2002. *Expert Opin Emerg Drugs* 2003;8: 9-25
- Park SH, Yang SH, Lee CG, Youn JW, Chang J, Sung YC. Efficient induction of T helper 1 CD4⁺ T-cell responses to hepatitis C virus core and E2 by a DNA prime-adenovirus boost. *Vaccine* 2003;210:4555-4564
- Puig M, Major ME, Mihalik K, Feinstone SM. Immunization of chimpanzees with an envelope protein-based vaccine enhances specific humoral and cellular immune responses that delay hepatitis C virus infection. *Vaccine* 2004;22:991-1000
- Koff RS. Hepatitis vaccines: recent advances. *Int J Parasitol* 2003;33:517-523
- Rockstroh JK, Vogel M. Therapy of hepatitis C in HIV-coinfection. *Eur J Med Res* 2004;9:304-308